



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **07238101 A**(43) Date of publication of application: **12 . 09 . 95**

(51) Int. Cl. **C08B 37/02**
C07H 21/00
C12M 1/00
C12N 15/09

(21) Application number: **06031676**(22) Date of filing: **01 . 03 . 94**(71) Applicant: **SUMITOMO METAL IND LTD**

(72) Inventor:
TAGUCHI YOSHINORI
KOSHIZAKA TAKUYA
KOBAYASHI SATSUKI
FURUHATA SATOYUKI
NAMATAME YASUKO

(54) **METHOD OF COLLECTING NUCLEIC ACID
 USING NOVEL COPRECIPITATING AGENT AND
 NUCLEIC ACID COLLECTION KIT**

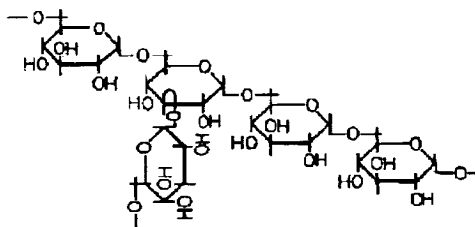
optionally after washing with ethanol.

COPYRIGHT: (C)1995,JPO

(57) Abstract:

PURPOSE: To provide a method which has steadily required performance concerning recovery, reproducibility, cost, conditions for reagent storage, etc., and is improved in the easiness of reagent handling and operation by adding a dextran as a coprecipitating agent.

CONSTITUTION: A protein modifier and an organic solvent are added to and liquid biological sample containing a nucleic acid. The mixture is stirred and then centrifuged to remove proteins. A salt e.g. sodium acetate, is added in such an amount as to give a concentration of 100-300mM Ethanol, isopropanol, or a combination of both is further added together with 0.001-0.075w/v% dextran, as a coprecipitating agent, which has the structure represented by the formula and an average mol.wt. of 300,000-10,000,000 and in which at least 65% of all the glucoside bonds are $\alpha 1 \rightarrow 6$ bonds and the branches are mainly bonded through $\alpha 1 \rightarrow 3$ bonds. The resulting mixture is cooled and then centrifuged at 8,000-12,000 \times g and 4°C for 5-10min. The supernatant is removed therefrom to obtain a nucleic-acid concentrate. This concentrate is dried under a reduced pressure



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-238101

(43) 公開日 平成7年(1995)9月12日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 8 B 37/02		7433-4C		
C 0 7 H 21/00				
C 1 2 M 1/00	A			
C 1 2 N 15/09		9281-4B	C 1 2 N 15/ 00	A
			審査請求 未請求 請求項の数 5	O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平6-31676

(22) 出願日 平成6年(1994)3月1日

(71) 出願人 000002118

住友金属工業株式会社

大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号

(72) 発明者 田口 美紀

大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号

住友金属工業株式会社内

(72) 発明者 越坂 卓也

大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号

住友金属工業株式会社内

(72) 発明者 小林 五月

大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号

住友金属工業株式会社内

(74) 代理人 弁理士 深見 久郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規共沈剤による核酸収集法および核酸収集用キット

(57) 【要約】

【目的】 核酸の回収率が高く、再現性に優れ、試薬の取扱いが容易であり、かつ抽出操作が従来よりさらに簡便になった新規な共沈剤を用いる核酸収集法を提供する。

【構成】 生物試料液にアルコールを添加して核酸を沈澱させるに際し、共沈剤としてデキストランを生物試料液に添加する。アルコールおよびデキストランを添加された試料液は、冷却された後、遠心分離にかけられる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 生物試料液にアルコールを添加して核酸を沈澱させるに際し、共沈剤としてデキストランを前記生物試料液に添加することを特徴とする、新規共沈剤による核酸収集法。

【請求項2】 塩類の添加により所定の塩濃度とされた生物試料液に、アルコールおよびデキストランを添加した後、冷却する工程と、
次いで冷却した試料液から遠心分離により核酸を収集する工程とを備えることを特徴とする、新規共沈剤による核酸収集法。

【請求項3】 タンパク質変性剤、塩類、デキストランおよび有機溶剤を同時に生物試料液に添加し混合する工程と、
混合液を遠心分離した後、水相を分取する工程と、
得られた水相にアルコールを添加して冷却する工程と、
次いで冷却された試料液から遠心分離により核酸を収集する工程とを備える、新規共沈剤による核酸収集法。

【請求項4】 生物試料液にアルコールを添加して核酸を沈澱させかつ収集するためのキットであって、
前記アルコールの添加による核酸の沈澱を促進する共沈剤として、デキストランおよびデキストラン溶液の少なくともいずれかを備えることを特徴とする、核酸収集用キット。

【請求項5】 生物試料液にアルコールを添加して核酸を沈澱させかつ収集するためのキットであって、
タンパク質変性剤、塩類、およびデキストランを、それぞれの独立した溶液として、または任意の組合せの混合溶液として容器内に備え、
前記溶液は、前記アルコールの添加に先立って、前記生物試料液に添加されるものであることを特徴とする、核酸収集用キット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、新規な共沈剤を用いた核酸収集法に関し、特に、遺伝子を材料として使用する遺伝子工学、生化学、臨床検査などのバイオテクノロジー分野に有効な、生物試料からの核酸精製方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 細胞、組織、血液もしくは血液成分、細菌、ウイルスなどの生物試料から核酸を抽出する方法では、核酸、細胞およびタンパク質成分の溶解、有機溶媒抽出、アルコール（エタノール、イソプロパノール）沈澱、ならびに洗浄といったおよそ4段階の操作により抽出精製される方法が最も普及している。ここで、アルコール沈澱、洗浄の2段階において以下の目的で共沈剤が添加される。

【0003】 (1) アルコール沈澱の際に試料抽出液内の核酸量が微量である場合、またはその濃度が希薄で

ある場合、塩析効果を高める。

【0004】 (2) アルコール沈澱、洗浄の際に、微量の核酸を視認しやすくし、操作性を向上させる。

【0005】 (3) アルコール沈澱、洗浄の際に、共沈剤の保持力により核酸の流出、減少を防止する。

【0006】 以上のような目的で添加される共沈剤には、グリコーゲン、トランスファーRNA、アクリルアミド系高分子物質などがある。血清からのウイルス等の核酸抽出には、これらの共沈剤が使用されることが多い。

【0007】 C型肝炎ウイルスのRNA抽出では、AGPC法 (Acid-Guanidinium thiocyanate-Phenol-Chloroform method) による核酸抽出法が最も普及している。以下に、グリコーゲンからなる共沈剤の使用とAGPC法を組合わせた核酸収集法について記載する。

【0008】 A：細胞の溶解、核酸の可溶化、有機溶媒抽出

生物試料液、たとえば血清に強力なタンパク質変性剤であるSolution D (4Mグアニジンチオシアネート、25mMクエン酸ナトリウム (pH 7.0)、0.5% N-ラウロイルサルコシナトリウム、0.1M 2-メルカプトエタノール) を加え、さらに0.1倍容量の2M酢酸ナトリウム、当量の水飽和フェノール、および0.2倍容量のクロロホルム-イソアミルアルコール (49:1容量) 混合溶媒を加えて攪拌する。次いで混合液を、氷中にて15分間静置した後、12,000×g、4℃で10分間遠心分離する。遠心分離によって分かれた層のうち、核酸 (RNA) の溶解している上層 (水相) を、下層 (有機溶媒相)、中間層 (変性タンパク質相) より分取する。

【0009】 B：アルコール沈澱、洗浄、再溶解
上層を別のチューブに分取した後、共沈剤としてグリコーゲンを添加し、さらにイソプロパノールを等量加えて、-20℃で1時間～オーバーナイト、あるいは-70℃で30分間静置する。次に、混合液について、12,000×g、4℃で10分間遠心分離を行ない、得られた上清を吸引もしくはデカンテーションにより除去する。沈澱を70%エタノールで2～3回洗浄し、減圧乾燥後、滅菌蒸留水等に再溶解する。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】 遺伝子工学や臨床検査等において、定常的に行なわれる核酸抽出法には、次に示すような性能が求められる。

【0011】 (1) 抽出、収集における核酸の回収率が高く、再現性に優れている。

(2) 抽出・収集1回当たりかかるコストが低い。

【0012】 (3) 使用する試薬の保存条件が厳しくなく、試薬の取扱いが簡便である。

(4) 核酸沈澱物がチューブより剥がれにくく、沈澱

10

20

30

40

50

物の視認がしやすい。

【0013】(5) 共沈剤は、紫外領域で吸収を持たず、エチジウムブロマイドにより染色されない。

【0014】(6) 共沈剤は、遺伝子増幅、逆転写反応等の各種酵素反応を阻害しない。

(7) 核酸沈澱物の減圧乾燥後の再溶解が容易である。

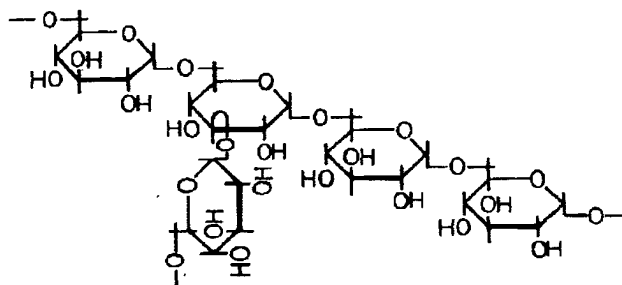
【0015】従来の方法は、これらすべての性能を備えるものではなかった。たとえば、グリコーゲン共沈剤として用いた従来の核酸収集法は、抽出・収集1回当りのコストが比較的高く、またグリコーゲンを -20°C で保存する必要があるため、コストや試薬の取扱い等の点で日常的な操作に向いていなかった。

【0016】本発明の1つの目的は、上記の性能をすべて兼ね備える新規核酸収集法を提供することにある。

【0017】本発明のさらなる目的は、試薬の取扱いが容易であり、かつ抽出・収集操作が従来よりさらに簡便になった核酸収集法およびそのキットを提供することにある。

【0018】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、生物試料*



【0023】微生物の培養液から取出されるデキストランは、非常に広範囲の分子量分布を有している。そこで、分子量分布の範囲を狭くした特性により明確なデキストランを得るため、アルコール沈澱による分画が行なわれる。また、ゲル濾過によって精製を行なってもよい。本発明において使用するデキストランの平均分子量は、たとえば300,000~10,000,000の範囲にあり、より好ましくは500,000~5,000,000の範囲にある。本発明に使用されるデキストランにおいて、たとえば主鎖および側鎖のグルコシド結合部の65%以上、より好ましくは90%以上が $\alpha 1 \rightarrow 6$ 結合であり、枝分かれは、主として $\alpha 1 \rightarrow 3$ 結合による。本発明では、単一の平均分子量を有する比較的分子量分布の狭いデキストランを用いてもよく、平均分子量の異なる2種以上のデキストランを用いてもよい。また、構造や特性の異なる複数種のデキストランを混合したものをを用いることもできる。

【0024】デキストランの使用量は、たとえば、1.5~2.0mlのチューブを使用して血清等からウイルス由来の核酸等を抽出する場合、抽出1回当り10~3

*液から核酸を回収するに当たり、新規な共沈剤を見出した。そして、この共沈剤を用いた方法が、上記の性能をすべて兼ね備え、かつ操作がより簡便になることを見出し本発明を完成するに至った。

【0019】本発明の新規共沈剤による核酸収集法は、生物試料液にアルコールを添加して核酸を沈澱させるに際し、共沈剤としてデキストランを生物試料液に添加することを特徴とする。

【0020】本発明は、血液、血清、培養細胞や組織等の溶解液等の核酸を含むあらゆる生物試料液に適用されるものである。

【0021】本発明において、共沈剤はアルコールの添加による核酸の沈澱を促進するための試薬である。共沈剤として用いられるデキストランは、乳酸菌の一種 *Leuconostoc mesenteroides* や *L. dextranicum* などによってスクロースから生成する $\alpha 1 \rightarrow 6$ 結合を主体とする粘質性のグルカンであり、代表的な部分構造はたとえば以下のとおりである。

【0022】

【化1】

00 μg 、好ましくは50~150 μg 、より好ましくは80~120 μg である。抽出液の総体積がたとえば400~1000 μl であるので、使用されるデキストランの濃度は、たとえば、0.001~0.075w/v%、好ましくは0.005~0.038w/v%、より好ましくは0.008~0.03w/v%である。

【0025】本発明の方法は、たとえば、塩類の添加により所定の塩濃度とされた生物試料液に、アルコールおよびデキストランを添加した後、冷却する工程と、次いで冷却した試料液から遠心分離により核酸を収集する工程とを備える。

【0026】塩類を添加する前の試料液は、種々の方法によって調製することができる。たとえば、細胞を破壊または溶解した生物試料液は、通常、除タンパク質の操作が施される。除タンパク質のため、たとえば、界面活性剤等のタンパク質変性剤および有機溶剤が生物試料液に添加され、攪拌、遠心分離の後、核酸の溶解している層が分画される。

【0027】タンパク質の除去が施された生物試料液には、塩類が添加される。添加された塩の濃度は、たとえ

ば100~300mMである。塩類には、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化リチウム、塩化カリウム等が用いられる。

【0028】所定の塩濃度にされた生物試料液は、さらに上述したデキストランおよびアルコールが添加される。デキストランの種類、平均分子量および添加量は、上述したとおりである。アルコールには、エタノール、イソプロパノールまたはそれらの組合せが用いられる。エタノールを用いる場合、添加すべき試料液の2~2.5倍容量、イソプロパノールを用いる場合、試料液の0.8~1倍容量が核酸沈殿のため添加される。

【0029】共沈剤およびアルコールが添加された試料液は、冷却された後、核酸の収集のため遠心分離にかけられる。遠心分離の条件は、たとえば、8,000~12,000×g、4℃、5~10分間である。遠心分離の後、上清を吸引またはデカンテーションによって除去すれば、核酸濃縮物としての沈殿が得られる。得られた沈殿物は、必要に応じて洗浄される。洗浄には、70%エタノール等のアルコール水溶液が用いられる。アルコール水溶液が添加された沈殿物は、遠心分離され、上清が吸引またはデカンテーションにより除去される。遠心分離は、たとえば、8,000~12,000×g、4℃、2~5分間行なわれる。得られた沈殿物について、さらに同様の洗浄操作を繰返すことができる。この洗浄操作は、たとえば2~3回繰返すことが望ましい。洗浄により沈殿物はさらに精製されていく。得られた沈殿物は、必要に応じて減圧乾燥される。減圧乾燥時間は、たとえば5~10分間である。これによりアルコール等が除去される。その後、種々の生化学的または遺伝子工学的操作、または種々の検定のため、核酸濃縮物は必要に応じて滅菌蒸留水等に再溶解される。

【0030】以上具体的に示した方法において、除タンパク質の操作、塩類の添加およびデキストランの添加を同時に行なうより簡便な方法を提供することができる。すなわち、本発明に従って、タンパク質変性剤、塩類、デキストランおよび有機溶剤を同時に生物試料液に添加し混合する工程と、混合された液を遠心分離した後、水相を分取する工程と、得られた水相にアルコールを添加して冷却する工程と、次いで冷却された試料液から遠心分離により核酸を収集する工程とを備える核酸収集法を提供することができる。

【0031】この方法では、タンパク質変性剤、塩類およびデキストランが血清等の生物試料液に同時に添加される。この添加のため、それぞれの試薬は適当な濃度のストック溶液として保存することができる。添加にあたってこれらの溶液を適当な割合で混合し、混合液を生物試料液に添加することができる。また、それぞれの試薬について任意に組合わせた混合液をストック溶液として保存することもできる。たとえば、タンパク質変性剤とデキストランの混合液を調製し保存することができる。

また、すべての試薬が混合された液をストック溶液として保存することもできる。これらの場合、ストック溶液が適当な割合でさらに混合されるか、またはそのまま生物試料液に添加される。

【0032】タンパク質変性剤には、上述したSolution D、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)等が用いられる。塩類には、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化リチウム、塩化カリウム等が用いられる。デキストランは上述したとおりである。これらの試薬と有機溶剤を段階的にあるいは同時に試料液に添加し、混合した後、遠心分離により水相を分取することによって、タンパク質の除去、核酸抽出、塩類の添加、共沈剤の添加を同時に行なうことができ、核酸回収の操作はより簡便になる。このステップにおいて、有機溶剤としてフェノール、クロロホルム、またはそれらの混合物を用いることができる。得られた水相にアルコールを添加して冷却した後、遠心分離を行なえば、タンパク質の除去、塩類添加、共沈剤添加を別々の操作で行なった場合と変わらない結果を核酸回収について得ることができる。

【0033】本発明は、以上示してきた方法を実施するためのキットをさらに提供する。本発明に従う核酸収集用キットは、生物試料液にアルコールを添加して核酸を沈殿させかつ収集するためのキットであって、アルコールの添加による核酸の沈殿を促進する共沈剤として、デキストランおよびデキストラン溶液の少なくともいずれかを備えることを特徴とする。キットにおいて、デキストランおよびデキストラン溶液は、適当な容器に收容され、共沈剤として提供される。デキストラン溶液は、たとえば、デキストラン水溶液であり、その濃度はたとえば、20~100μg/mlとすることができる。デキストランには、上述のものを用いることができる。

【0034】さらに、本発明に従って、上述した簡便な方法を実施するための核酸収集用キットを提供することができる。このキットは、タンパク質変性剤、塩類およびデキストランを、それぞれの独立した溶液として、またはそれらの任意の組合わせの混合溶液として備え、これらの溶液が、アルコールの添加に先立って生物試料液に添加されるものであることを特徴とする。

【0035】このキットにおいて、タンパク質変性剤、塩類およびデキストランは、それぞれ独立した溶液として容器に收容されるか、またはそれらの任意の組合わせの混合溶液として容器に收容される。容器に收容された試薬は、使用時に混合された後、またはそのまま生物試料液に添加される。キットにおいて、これらの試薬は、アルコールの添加に先立って添加されるよう表示される。

【0036】以上に説明したキットは、その他、必要に応じて他の試薬を備えることができる。たとえば、除タンパクのために添加されるフェノール、クロロホルム等の有機溶剤、核酸沈殿のため添加されるアルコールまた

はアルコール溶液、核酸洗浄のために添加されるアルコールまたはアルコール溶液等が必要に応じてキットに含まれる。これらの試薬は、適当な量および適当な濃度において容器に収容される。

【0037】本発明により抽出された核酸は、吸光度測定、電気泳動、遺伝子増幅（PCR法）等に適用でき、さらに核酸がRNAであれば、逆転写反応などの材料として用いることができる。本発明に従う核酸収集法におけるデキストランは、これらの反応や測定を阻害または妨害しない。また、これらの方法を駆使して抽出された核酸を検定し、確認することも可能である。

【0038】本発明は、上述した核酸回収法に要求される性能をすべて満足するものである。以下の実施例に示すように、本発明によれば、高い回収率、たとえば90%以上の回収率で核酸を収集することができ、しかも再現性はグリコーゲンを共沈剤として用いる方法と同等もしくはそれ以上である。また、グリコーゲンは-20℃で保存する必要がある一方、デキストランは室温で保存することができ、試薬の取扱いもより容易になる。これらの特性を備える本発明は、定常的な核酸回収操作により適したものである。

【0039】本発明により抽出された核酸は、各種遺伝子の研究、臨床分野に適応することができ、したがって本発明は極めて広範囲の用途に適用できるものである。

【0040】以下に記載する実施例において本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらに何ら限定されるものではない。

【0041】

【実施例】

実施例1. λ -DNAの回収実験

* 既知濃度 λ -DNAを精製水で希釈溶解し、これを以下の手順でアルコール沈澱を行ない回収した。

【0042】まず、既知濃度の λ -DNA水溶液に、塩化ナトリウムを最終濃度が200mMとなるよう添加し、さらに共沈剤として平均分子量が2,000,000および500,000の2種のデキストランを0、10、40、80、100 μ g各々添加し、全体の体積が500 μ lとなるように調製した。これら2種のデキストランは、ファルマシア・ファイン・ケミカルズ（Pharmacia Fine Chemicals）社よりそれぞれデキストランT2000（平均分子量200万のもの）、デキストランT500（平均分子量50万のもの）として入手できた。 λ -DNAの最終濃度は2.5 μ g/ml、5.0 μ g/mlの2種類とした。

【0043】このようにして調製した λ -DNA水溶液に等量（500 μ l）のイソプロパノールを添加し攪拌した後、-80℃で30分間冷却した。次にこれらの溶液を解凍した後、12,000 \times g、4℃で10分間遠心分離した。上清を吸引により除去し、70%エタノール水溶液500 μ lを添加し沈澱を洗浄した。同様に遠心分離を3分間行ない、上清を吸引により除去した。この洗浄操作をもう一度行ない、明確な白色沈澱として λ -DNAを回収した。得られた沈澱を5分間減圧乾燥し、精製水500 μ lに再溶解した。

【0044】以上の操作の前後で波長280nmにおける吸光度測定を行ない、回収率（%）を計算した。その結果を表1に示す。

【0045】

【表1】

* 30

λ -DNA回収実験結果

デキストラン 平均分子量	デキストラン 添加量 (μ g)	回収率 (%)	
		λ -DNA 初期濃度 (μ g/ml)	
		2.5	5.0
2×10^6	0	60.6	62.7
	10	77.4	72.0
	40	84.6	81.4
	80	92.6	90.3
	100	94.8	97.1
5×10^5	0	59.2	55.6
	10	66.4	68.3
	40	86.0	84.7
	80	90.8	92.4
	100	93.2	93.0

【0046】実施例2. デキストランとグリコーゲンのAGPC法による比較

従来より使用されている共沈剤グリコーゲンと、本発明の方法で用いるデキストラン（平均分子量2,000,000を使用）をAGPC法において比較検討した。対象はHCV-RNAとし、HCV-RNA量が少ないと考えられる試料血清66例を用いて行なった。

【0047】血清試料100 μ lをマイクロ遠心チューブに取り、Solution D（4Mグアニジンチオシアネート、25mMクエン酸ナトリウム（pH7.0）、0.5%N-ラウロイルサルコシナトリウム、0.1M2-メルカプトエタノール）、2M酢酸ナトリウム、水飽和フェノールの混合液（液量比10:10:1）を500 μ l加え、さらに、クロロホルム-イソアミルアルコールを50 μ l添加した後、90秒間攪拌し、氷上にて15分間静置した。次に、12,000 \times g、4 $^{\circ}$ Cで10分間遠心分離を行ない、上層（水相）を別のチューブに350 μ l分取した。

【0048】共沈剤としてグリコーゲン（40 μ g）、またはデキストラン（80 μ g）を添加し、イソプロパノールを300 μ l加え、-70 $^{\circ}$ Cで30分間静置した。

【0049】解凍後、12,000 \times g、4 $^{\circ}$ Cで10分間遠心分離を行ない、上清を吸引により除去した。沈澱を70%エタノール水溶液500 μ lで2回洗浄し、減圧乾燥の後、滅菌蒸留水に再溶解した。これをRT-nested PCR法により増幅し、アガロースゲル電気泳動、エチジウムブロマイド染色により検出を行なった。表2に検出結果を示す。

【0050】

【表2】

デキストランとグリコーゲンの比較

H C V - R N A (n = 6 6)	デキストラン	
	陽 性	陰 性
陽 性	4 7	5
グリコーゲン 陰 性	5	9

【0051】実施例3. AGPC法における共沈剤の添加段階の検討

共沈剤を最初からSolution D等の溶液に混合して実施例2に記載のAGPC法により血清中のHCV-RNAを抽出した。HCV-RNA量が少ないと考えられる試料血清20例について検討を行なった。

【0052】一方、血清試料100 μ lをマイクロ遠心チューブに取り、Solution D、2M酢酸ナトリウム、水飽和フェノール、20mg/mlデキストラン水溶液（平均分子量2,000,000）の混合液（液量比50:50:5:1）を500 μ l加え、さらに、クロロホルム-イソアミルアルコールを50 μ l添加した。混合液を90秒間攪拌し、氷上にて15分間静置した。次に、12,000 \times g、4 $^{\circ}$ Cで10分間遠心分離を行ない、上層（水相）を別のチューブに350 μ l分取した。

【0053】分取した水相にイソプロパノールを300 μ l加え、-70 $^{\circ}$ Cで30分間静置した。解凍後、12,000 \times g、4 $^{\circ}$ Cで10分間遠心分離し、上清を吸引により除去した。沈澱を70%エタノール水溶液500 μ lで2回洗浄し、減圧乾燥の後、滅菌蒸留水に再溶解した。これをRT-nested PCR法により増幅し、アガロースゲル電気泳動、エチジウムブロマイド

染色により検出を行なった。

【0054】その結果、実施例2のプロセスに従ったものでは、20例中10例、一方最初の段階で他の試薬と同時にデキストランを添加したのもでも20例中10例の検出が可能であった。したがって、最初にデキストランを他の試薬と添加しても、途中で添加する方法と何ら遜色のない結果が得られた。共沈剤として用いるデキストランは、Solution D中でも安定であった。したがって、デキストランはSolution D等のタンパク質変性剤溶液に添加したまま保存ができるうえ、共沈剤の分注の手間が省けるといった操作の向上が得られた。

【0055】

【発明の効果】本発明により、従来法よりも抽出安定性が高く、操作性の良い、容易な核酸抽出を行なうことができる。また、本発明は、試薬の保存安定性が高いうえ、経済的にも優れている。本発明により回収された核酸は、吸光度測定、電気泳動、遺伝子増幅（PCR）等に使用することができ、また核酸がRNAであれば逆転写反応に供することができる。本発明では、これらの反応を阻害もしくは妨害するような因子をもたらさずに、各種遺伝子の研究、臨床分野において核酸濃縮物を供することができる。したがって、本発明の適用範囲は極めて

て広いものである。

フロントページの続き

(72)発明者 古畑 聡之

大阪府大阪市中央区北浜 4 丁目 5 番 33 号

住友金属工業株式会社内

* (72)発明者 生天目 康子

大阪府大阪市中央区北浜 4 丁目 5 番 33 号

住友金属工業株式会社内

*